

「精神・神経疾患の分子病態理解に基づく診断・治療へ向けた
新技術の創出」

平成21年度採択研究代表者

H23 年度 実績報告

西川 徹

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・教授

統合失調症のシナプスグリア系病態の評価・修復法創出

§1. 研究実施体制

(1)「西川」グループ(東京医科歯科大学)

① 研究代表者: 西川 徹 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科、教授)

② 研究項目

・シナプスグリアーD-セリン系の分子機構解明と統合失調症における病態解析および修復法創出

(2)「福井」グループ(徳島大学)

① 主たる共同研究者: 福井 清 (徳島大学疾患酵素学研究センター、教授)

② 研究項目

・D-アミノ酸酸化酵素によるシナプスグリア機能調節と統合失調症における病態の解析

(3)「田中」グループ(東京医科歯科大学)

① 主たる共同研究者: 田中 光一 (東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部、教授)

② 研究項目

・シナプスグリア機能連携の分子機構とD-セリンシおよびグルタミン酸シグナルの役割の解明

(4)「有馬」グループ(国立精神・神経医療研究センター)

① 主たる共同研究者: 有馬 邦正 ((独)国立精神・神経医療研究センター病院・
第一精神診療部、部長)

② 研究項目

・統合失調症のシナプスグリアーD-セリン系病態の薬物治療試験および死後脳における解析

(5)「大森」グループ(徳島大学)

① 主たる共同研究者: 大森 哲郎 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部、教授)

② 研究項目

・シナプスーグリアーD-セリン系作用薬の統合失調症治療効果とその生物学的指標の解析

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

本課題では、D-セリンをグリアーニューロン相互シグナル分子とする、グルタミン酸(Glu)シナプスの分子細胞機構と統合失調症における病態を解明し、その評価・修復法を創出する基礎的研究と、Glu シナプスに影響する既認可薬 D-サイクロセリンによる本症の難治症状の治療試験を行う臨床的研究を、連携させながら推進している。今年度は、基礎的研究として、D-セリンの細胞外液中濃度の調節機構、分解酵素の機能、ニューロンとグリアにある Glu トランスポーターの機能的連関、D-セリンがコアゴニストとして作用するNMDA 受容体との関係などを中心とした研究が進展し、Glu シナプスーグリアの制御に関する新知見が得られた。さらに、個体レベルの解析に必要な遺伝子改変動物の作製を継続した。臨床面では、治療試験とともに、D-サイクロセリン反応性患者と対比するため、他の疾患群・健常群における生物学的指標の検討を継続・拡充した。

【1】基礎的研究

(i) D-セリンの合成・放出・取込の分子細胞機構解明および統合失調症との関連性の検討

D-セリンは、コアゴニストとして NMDA 受容体の活性化に不可欠なことから、Glu シナプスにおける細胞外濃度を制御する分子細胞機構とその病態を明らかにする研究を重点的に進めている。今年度は、D-セリン合成に関与するセリンラセマーゼの遺伝子を神経細胞選択的に欠損させたマウスの細胞外D-セリン動態を調べた。さらに、生理的 D-セリン放出細胞とその分子カスケードを調べるため、特定グリア細胞を蛍光標識あるいは破壊するためのトランスジェニックマウスや、D-セリン遊離に関係する dsm-1 遺伝子のコンディショナルノックアウトマウスの作製が進展し、免疫組織化学や定量的遺伝子発現解析等で検証を行った。一方、継続的に進めていた、統合失調症の発症や再発に重要なストレスに対して急性に強い応答を示す遺伝子群の検討では、既知の D-セリン関連遺伝子は含まれていなかった(3-1, No.2)。

(ii) D-セリンの分解系の分子細胞機構の解明と統合失調症における病態の解析

D-セリンの分解活性をもつ DAO の病態生理学的な意義の解析を進めるため、細胞外 D-セリンとその代謝産物である H₂O₂ と 6-hydroxypyruvate (HPA) のグリア細胞並びにグリオーマ細胞に対する細胞死誘導作用の検討を行った。その結果、D-セリン特異的に産生される代謝産物である HPA による細胞死はグリア細胞に特異的に起こる可能性が示唆された。したがって、D-セリンを統合失調症の治療薬として投与する際に、DAO 阻害剤を併用投与する場合は、D-セリン代謝により生じる細胞毒性を抑制することが必要と考えられる。このような、D-セリン代謝

産物による細胞細胞死誘導活性は、他方、グリオーマの治療に応用できることが示唆された(3-1, No.4 & 5)。

(iii)統合失調症の病態修復のための D-セリンシグナル調整薬およびその標的分子検索

統合失調症の病態を修復するD-セリンシグナル調整法とその標的分子の手がかりを得るため、D-セリン濃度を増加させたラット大脳新皮質におけるD-セリン選択的応答性遺伝子や、種々初代培養脳細胞(グリア、ニューロン)を用いたD-セリン含有量が高い細胞に発現する遺伝子の、DNAアレイによる検索により、D-セリンの代謝に重要な未知分子の網羅的解析を継続した。

(iv)シナプスグリア-D-セリン-グルタミン酸機能連携の分子細胞機構および統合失調症における病態の解明

統合失調症で推測される Glu シナプス伝達の異常について、ゲノムや死後脳の解析から、グリア細胞の Glu トランスポーターGLT1, GLAST と神経細胞の Glu 受容体との関連が注目されている。本年度は、GLT1 と GLAST の機能異常が脳形成を障害し、これには、神経細胞の NMDA 型 Glu 受容体が重要なことや、認知機能障害への関与等を見出した(3-1, Nos. 3 & 8)。また、神経細胞の Glu トランスポーターEAAT4 が、グリア細胞 Glu 受容体の活性化を制御するという、新しいシナプスグリア機能連携機構を明らかにした(3-1, No.11)。さらに、統合失調症の two hit model に基づいたモデル動物を作製するため、ドキシサイクリンによりGLT1の発現が制御可能な、GLT1のプロモーター領域に STOP-TetO 配列をノックインしたマウスを作製した。

【2】臨床的研究

(i) NMDA受容体-D-セリン系に作用する既認可薬を用いた統合失調症の臨床治療試験

Gluシナプスグリア系調節候補薬として、NMDA受容体-D-セリン系に作用する既認可薬 D-サイクロセリンを用いた、統合失調症の難治性症状に対する臨床治療試験への患者エントリーを継続した。本試験参加者と、比較を行うのに必要な、入院・外来におけるそれ以外の統合失調症患者、気分障害その他の精神疾患患者(疾患対照群)、および健常者(対照群)において、近赤外線スペクトロスコピー(NIRS)、探索的眼球運動、MRI拡散テンソル画像、情動知能スケールなどの各生物学的・心理学的指標の検討を進めた(3-1, No. 6 & 10)。今年度から、新たに視覚的錯覚テストを加えた。

今年度は、認知機能の指標を増やす目的で、器具を使った錯視テストの予備的な検討を行ったところ、統合失調症患者と健常者の間で差異が見られたことから、導入をすることとした。また、統合失調症認知機能簡易評価尺度(Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, BACS)の研究では、これまでに認知機能と臨床症状およびQOLの関係について検討してきたが、今年度は認知機能と生活技能の関連および認知機能と病識の関連の検討を進めた。

一方、統合失調症患者の前部帯状回の Gln/Glu 比が抗精神病薬投与量と有意な正の相関をもつことが示唆された。また NIRS を用いて、統合失調症の Stroop 試験時(3-1, No.9)および広汎性発達障害の表情認知過程における前頭葉賦活の低下(3-1, No. 7)を見出した。遺伝

子発現研究ではリチウムの薬理作用に関する知見を得(3-1, No.12)、多型解析からは統合失調症における PCM1 遺伝子に関する知見を得た(3-1, No.1)。

(ii)統合失調症病態解析のための研究リソース整備

上記(i)の臨床的研究から得られたデータ、血液サンプル等は順次、整理し保存している。国立精神・神経医療研究センター臨床検査部病理検査室 剖検脳レポジトリーおよびリサーチリソースネットワークへの登録脳検体からの、研究サンプルの同定を続けており、統合失調症剖検例では、2011年4-12月の追加症例はなかったが、良好な条件の凍結脳が5例あることがわかった。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Hashimoto R, Ohi K, Yasuda Y, Fukumoto M, Yamamori H, Kamino K, Morihara T, Iwase M, Kazui H, Numata S, Ikeda M, Ueno S, Ohmori T, Iwata N, Ozaki N, and Takeda M. “No association between the PCM1 gene and schizophrenia: a multi-center case-control study and a meta-analysis.” *Schizophr Res.* Vol.129 (1): pp. 80-84, 2011. (doi:10.1016/j.schres.2011.03.024)
2. Kurumaji A, Umino M, and Nishikawa T. “Effects of novelty stress on hippocampal gene expression, corticosterone and motor activity in mice.” *Neurosci Res.* Vol.71 (No. 2), pp. 161-167 2011. (doi: 10.1016/j.neures.2011.06.006)
3. Mookherjee, P., Green, P.S., Watson, G.S., Marques, M.A., Tanaka, K., Meeker, K.D., Meabon, J.S., Li, N., Zhu, P., Olson, V.G., and Cook, D.G. “GLT-1 loss accelerates cognitive deficits onset in an Alzheimer’s disease animal model.” *J Alzheimers Dis* vol.26, pp. 447-455, 2011 (DOI:10.3233/JAD-2011-110503)
4. El Sayed SM, Abou El-Magd RM, Shishido Y, Chung SP, Sakai T, Watanabe H, Kagami S and Fukui K. “D-amino acid oxidase gene therapy sensitizes glioma cells to the antiglycolytic effect of 3-bromopyruvate.” *Cancer Gene Therapy* vol. 19, No. 1, pp. 1-18, 2012 (DOI: 10.1038/cgt.2011.59)
5. El Sayed SM, Abou El-Magd RM, Shishido Y, Chung SP, Diem TH, Sakai T, Watanabe H, Kagami S and Fukui K. “3-Bromopyruvate antagonizes effects

- of lactate and pyruvate, synergizes with citrate and exerts novel anti-glioma effects.” *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* vol. 44, No.1, pp. 61-79, 2012 (DOI: 10.1007/s10863-012-9409-4)
6. Nishida M, Nariai T, Hiura M, Ishii K, and Nishikawa T. “Memory deficits due to brain injury: unique PET findings and dream alterations.” *BMJ Case Reports* 2011 (doi:10.1136/bcr.09.2011.4845)
 7. Yoshihiro Nakadoi, Satsuki Sumitani, Yukina Watanabe, Mai Akiyama, Naomi Yamashita and Tetsuro Ohmori. “Multi-channel near-infrared spectroscopy shows reduced activation in the prefrontal cortex during facial expression processing in pervasive developmental disorder.” *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 66 (1), pp. 26-33. 2012. (doi: 10.1111/j.1440-1819.2011.02290.x.)
 8. Mookherjee, P., Green, P.S., Watson, G.S., Marques, M.A., Tanaka, K., Meeker, K.D., Meabon, J.S., Li, N., Zhu, P., Olson, V.G., and Cook, D.G. “GLT-1 loss accelerates cognitive deficits onset in an Alzheimer’s disease animal model.” *J Alzheimers Dis* vol.26. pp. 447-455, 2011 (DOI:10.3233/JAD-2011-110503)
 9. Kyoko Taniguchi, Satsuki Sumitani, Yukina Watanabe, Mai Akiyama, and Tetsuro Ohmori. “Multi-channel near-infrared spectroscopy reveals reduced prefrontal activation in schizophrenia patients during performance of the kana Stroop task.” *The Journal of Medical Investigation*. Vol.59 (No.1,2), pp. 45-52. 2012.(doi:10.2152/jmi.59.45.)
 10. Uezato A, Yamamoto N, Kurumaji A, Toriihara A, Umezaki Y, Toyofuku A, and Nishikawa T. “Improvement of asymmetrical temporal blood flow in refractory oral somatic delusion after successful electroconvulsive therapy” *J ECT* 28, pp. 50-51, 2012. (doi:10.1097/YCT.0b013e31822e581e)
 11. Tsai MC, Tanaka K, Overstreet-Wadiche L, Wadiche JI. Neuronal glutamate transporters regulate glial excitatory transmission. *J Neurosci* 32, pp. 1528-1535, 2012 (doi: 10.1523/JNEUROSCI.5232-11.2012)
 12. Kikuchi K, Iga JI, Tayoshi S, Nakataki M, Watanabe S, Numata S, and Ohmori T. “Lithium decreases VEGF mRNA expression in leukocytes of healthy subjects and

patients with bipolar disorder.” *Hum Psychopharmacol.* 26, pp. 358-363, 2011
(doi: 10.1002/hup.1215.)